

การพัฒนาอนุภาคนาโนของโพลีกลีเซอรอลอะดิเพท
ที่เชื่อมต่อกับเมโธเทรกเซท เพื่อการรักษามะเร็ง

นางสาวนพณ์ชนม์ เจริญเวชธนกิจ
นายธวัชชัย ตันติชูฟ้า

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2558

การพัฒนาอนุภาคนาโนของโพลีกลีเซอรอลอะดิเพท
ที่เชื่อมต่อกับเมไธเทรกเซท เพื่อการรักษามะเร็ง

นางสาวนพณ์ชนม์ เจริญเวชธนกิจ
นายธวัชชัย ตันติชูฟ้า

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2558

DEVELOPMENT OF METHOTREXATE-
CONJUGATED POLY(GLYCEROL ADIPATE)
NANOPARTICLES FOR CANCER THERAPY

MISS NOPNATCHON JAROENWETTANAKIJ
MISTER TAWATCHAI TUNTICHULA

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

2015

โครงการพิเศษ

เรื่อง การพัฒนาอนุภาคนาโนของโพลีกลีเซอรอลอะดิเพท
ที่เชื่อมต่อกับเมโทเทรกเซท เพื่อการรักษามะเร็ง

.....
(นางสาวนพณ์ชนม์ เจริญเวชธนกิจ)

.....
(นายธวัชชัย ตันติชูฟ้า)

.....
(ผศ.ดร.จิรพงศ์ สุขศิริวงษ์)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
(ศ.ดร.วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การพัฒนาอนุภาคนาโนของโพลีกลีเซอรอลอะดิเพท ที่เชื่อมต่อกับเมโทเทรกเซท เพื่อการรักษามะเร็ง

นพณัชชนม์ เจริญเวชธนกิจ, ธวัชชัย ต้นติชูฟ้า

อาจารย์ที่ปรึกษา : จิรพงศ์ สุขสิทธิ์วรพงศ์*, วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ*

*ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : โพลีกลีเซอรอลอะดิเพท, เมโทเทรกเซท, อนุภาคนาโน

โครงการพิเศษนี้จัดทำขึ้นเพื่อพัฒนาอนุภาคนาโนของโพลีกลีเซอรอลอะดิเพท (PGA) ที่เชื่อมต่อกับเมโทเทรกเซท (MTX) เพื่อการรักษามะเร็ง แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การสังเคราะห์ PGA ที่เชื่อมต่อกับ MTX (MTX-PGA-mPEG) และ การพัฒนานาโนพาร์ติเคิลของ MTX-PGA-mPEG เริ่มต้นจากการสังเคราะห์ PGA ที่มีหมู่คาร์บอกซิล (PGA-SA) โดยใช้ succinic anhydride (SA) จากสเปกตรัมของ NMR และ FT-IR ตรวจสอบลักษณะเฉพาะของ SA และคำนวณ %SA ที่ติดได้ต่อสายโซ่ PGA เท่ากับ 1.50% จากนั้นจึงนำ PGA-SA ไปเชื่อมต่อกับ mPEG (PGA-mPEG) พบว่าได้ %mPEG ต่อสายโซ่ PGA เท่ากับ 2.00% และตรวจสอบลักษณะเฉพาะของ mPEG และพันธะเอไมต์ที่เกิดขึ้นจากการเชื่อมต่อกับ mPEG กับ PGA ในสเปกตรัม NMR และ FT-IR เมื่อนำ PGA-mPEG ไปเชื่อมต่อกับ MTX พบว่าปริมาณ MTX ที่วิเคราะห์ได้จาก NMR เท่ากับ 5.0%, 9.0% และ 19.0% สำหรับ 10%, 20% และ 30% MTX-PGA-mPEG ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC พบว่าปริมาณ MTX ที่ติดได้อยู่ในช่วง 9-88 $\mu\text{g}/\text{พอ}$ ลิเมอร์ 1 mg เมื่อนำมาเตรียมเป็นนาโนพาร์ติเคิลด้วยวิธี solvent diffusion-dialysis พบว่า นาโนพาร์ติเคิลของ PGA-SA มีอนุภาคขนาด 114 ± 10 nm มีการกระจายขนาดอนุภาคต่ำ (0.039 ± 0.010) และมีค่าประจุบนพื้นผิวเท่ากับ -29.3 ± 7.1 mV การติดสายโซ่ mPEG ทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลงเหลือ 37 ± 4 nm และประจุบนพื้นผิวลดลงเหลือ -19.4 ± 1.9 mV นาโนพาร์ติเคิลที่เตรียมจาก MTX-PGA-mPEG มีขนาดใหญ่ขึ้น ($33-99$ nm) ตามปริมาณ MTX ที่เพิ่มขึ้น การกระจายขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นและพื้นผิวมีประจุลบอยู่ในช่วง -10.3 ถึง -13.6 mV จากการศึกษาการปลดปล่อยยา MTX จากนาโนพาร์ติเคิลในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.5 และ 7.4 พบว่าการปลดปล่อย MTX เป็นแบบเนิ่น ครอบคลุมระยะเวลาการปลดปล่อย 30 วัน และ 7 วันตามลำดับ อัตราและปริมาณการปลดปล่อยยามีค่าเพิ่มขึ้นตาม %MTX ที่อยู่ในอนุภาค ยกเว้นนาโนพาร์ติเคิลที่เตรียมจาก 10% MTX-PGA-mPEG

Abstract

Development of methotrexate-conjugated poly(glycerol adipate) nanoparticles for cancer therapy

Nopnatchon Jaroenwettanakij, Tawatchai Tuntichula

Project advisor : Jiraphong Suksiriworapong*, Varaporn Junyaprasert*

*Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword : poly(glycerol adipate), methotrexate, nanoparticles

This special project aimed to develop the methotrexate (MTX)-conjugated poly(glycerol adipate) (PGA) nanoparticles for cancer therapy. This project was divided into 2 parts, namely the synthesis of methotrexate-conjugated poly(glycerol adipate)-methoxy poly(ethylene glycol) (MTX-PGA-mPEG) and the development of MTX-PGA-mPEG nanoparticles. Firstly, the carboxylated PGA (PGA-SA) polymer was synthesized using succinic anhydride (SA). From NMR and FT-IR spectra, the characteristic peaks of SA were identified and the calculated %SA per polymer chain was found to be 1.50%. After conjugation with mPEG, the calculated %mPEG per polymer chain was 2.00% and the characteristic peaks of mPEG and amide bond of PGA and mPEG were detected in NMR and FT-IR spectra. After MTX conjugation, the computed %MTX was 5.0%, 9.0% and 19.0% for 10%, 20% and 30%MTX-PGA-mPEG, respectively. However, the amount of MTX analyzed by HPLC was in the range of 9-88 $\mu\text{g}/1 \text{ mg}$ polymer. After nanoparticle preparation by solvent diffusion-dialysis method, the PGA-SA nanoparticles had the particle size of $114 \pm 10 \text{ nm}$ with narrow size distribution (0.039 ± 0.010) and zeta potential of $-29.3 \pm 7.1 \text{ mV}$. The presence of mPEG in the polymer decreased the particle size to $37 \pm 4 \text{ nm}$ and the surface charge to $-19.4 \pm 1.9 \text{ mV}$. The MTX-PGA-mPEG nanoparticles possessed the enlarged size (33-99 nm) with increasing %MTX, the widened size distribution and the negative surface over the range of -10.3 to -13.6 mV. From *in vitro* release study in phosphate buffers pH 4.5 and 7.4, the release of MTX was sustainable over 30 and 7 days, respectively. The rate and extent of MTX release increased with increasing %MTX except for 10%MTX-PGA-mPEG nanoparticles.